

(19)



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets

(11) Numéro de publication:

0 403 366
A2

(12)

DEMANDE DE BREVET EUROPEEN

(21) Numéro de dépôt: 90401620.1

(51) Int. Cl.⁵ **C08B 37/16**

(22) Date de dépôt: 12.06.90

(30) Priorité: 14.06.89 FR 8907876

(43) Date de publication de la demande:
19.12.90 Bulletin 90/51(84) Etats contractants désignés:
BE DE GB IT

(71) Demandeur: COMMISSARIAT A L'ENERGIE
ATOMIQUE Etablissement de Caractère
Scientifique Technique et Industriel
31/33, rue de la Fédération
F-75015 Paris(FR)

Demandeur: UNIVERSITY COLLEGE DUBLIN
Belfield
Dublin 4(IE)

Demandeur: Darcy, Raphael Dr
58 Clonard Drive
Dublin 16(IE)

(72) Inventeur: Darcy, Raphael
58, Clonard Drive
Dublin 16(IE)

Inventeur: Defaye, Jacques
202, Chemin du Vercors
F-38330 Saint-Ismier(FR)

Inventeur: Gadelle, Andrée
28 Hameau Fleuri, Montbonnot-Saint-Martin
F-38330 Saint-Ismier(FR)

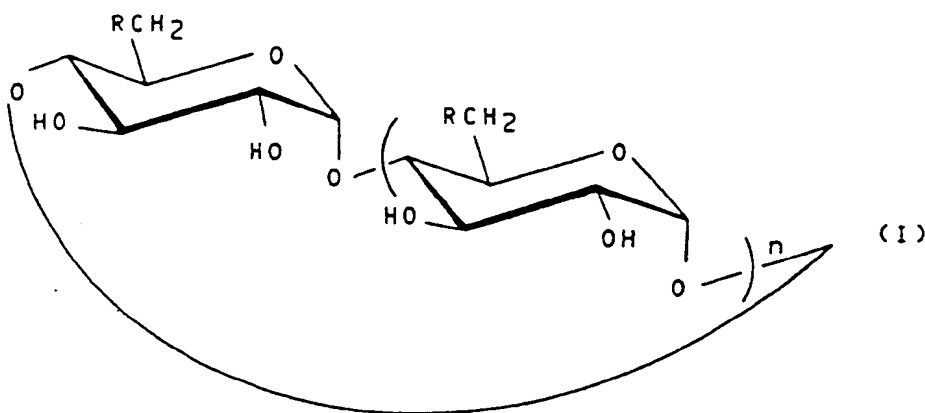
Inventeur: Guillet, Alain
6 Chemin du Signal
F-69110 Sainte Foy les Lyon(FR)

Inventeur: O'Sullivan, Thomas
c/o University College Dublin
Belfield, Dublin 4(IE)

(74) Mandataire: Mongrédien, André et al
c/o BREVATOME 25, rue de Ponthieu
F-75008 Paris(FR)

(54) Dérivés de cyclomalto-oligosaccharides et leurs procédés de préparation.

(57) L'invention concerne des dérivés de cyclomalto-oligosaccharides répondant à la formule :



EP 0 403 366 A2

dans laquelle n est un nombre entier de 3 à 10, et les R qui peuvent être identiques ou différents, sont des résidus mono saccharidiques ou oligo saccharidiques liés par un atome de soufre et éventuellement une

chaîne thio hydrocarbonée.

Ces dérivés peuvent être préparés par réaction d'un ester sulfonique de cyclomalto-oligosaccharide correspondant avec un thio-monosaccharide ou un thio-oligosaccharide.

Dérivés de cyclomalto-oligosaccharides et leurs procédés de préparation.

La présente invention concerne de nouveaux dérivés de cyclomalto-oligosaccharides et leurs procédés de préparation.

De façon plus précise, elle concerne des dérivés de cyclomalto-oligosaccharides ramifiés obtenus en fixant sur au moins un des carbones en position 6 de l'oligosaccharide cyclique un résidu osidique ou un
5 résidu oligosaccharidique par l'intermédiaire d'un atome de soufre.

Les cyclomalto-oligosaccharides, plus couramment appelés cyclodextrines, sont des oligosaccharides cycliques du D-glucose comportant le plus communément de six à huit unités D-glucopyranosyle liées par des enchainements α -(1 \rightarrow 4), ce qui leur confère une morphologie de type torique. Du fait de cette géométrie moléculaire et des structures électroniques afférentes, un caractère hydrophobe est associé à la
10 cavité interne du cycle alors que la surface externe de la molécule est hydrophile. Cette disposition favorise la formation de complexes d'inclusion avec des molécules hydrophobes par association apolaire, améliorant ainsi la solubilisation de ces molécules dans l'eau. Ces propriétés sont très largement exploitées dans beaucoup de domaines tels que les domaines pharmaceutique, vétérinaire, agrochimique, alimentaire et cosmétique incluant les arômes et parfums. Les cyclodextrines sont ainsi utilisées pour stabiliser des
15 molécules labiles, améliorer le transport moléculaire vers des sites cibles, ou encore favoriser des réactions d'interfaces, comme il est décrit dans Drug Development and Industrial Pharmacy, 12 11-13, p. 2193-2216, 1986.

On sait que la solubilité des cyclomalto-oligosaccharides dans l'eau, mais également dans les solvants non aqueux, et par voie de conséquence celle de leurs produits d'inclusion, est notablement augmentée
20 lorsque la molécule est substituée par des groupements hydrophiles. C'est le cas en particulier des cyclomalto-oligosaccharides ramifiés, qui comportent un ou plusieurs substituants α -D-glucopyranosyle, α -maltosyle ou encore un ou plusieurs substituants homologues supérieurs oligosaccharidiques en position C-6 hydroxyméthyle de l'oligosaccharide cyclique.

Ces cyclomalto-oligosaccharides ramifiés peuvent être préparés par des techniques faisant appel à
25 l'enzymologie, à la synthèse chimique ou à une combinaison des deux.

Ainsi, il est décrit par Kobayashi et al dans Proc. 1st Int. Symp. on Cyclodextrins, Budapest, 1981, p. 51 à 60, un procédé de préparation de glucosyl-cyclodextrines par action de *Bacillus macerans* cyclomaltodex-
trine glucanotransférase sur l'amidon. On connaît aussi par les documents GB-A-2 165 549 et Chemical
30 Abstracts, vol. 107, 1987, p. 603, n° 107:57465n (JP-A- 6206696 (8706696), des procédés de préparation de cyclodextrines ramifiées à partir de cyclodextrines et de glucose d'un maltooligosaccharide, ou encore des fluorures de glycosyle correspondant utilisant la pullulanase comme catalyseur pour la réaction de transfert du glucose ou du malto-oligosaccharide.

Dans les procédés décrits ci-dessus, on obtient un mélange de cyclodextrines diversement ramifiées et la purification de ces composés, réalisée à l'échelle du laboratoire est longue et difficile, si bien que ces
35 produits sont généralement commercialisés sous la forme de mélanges.

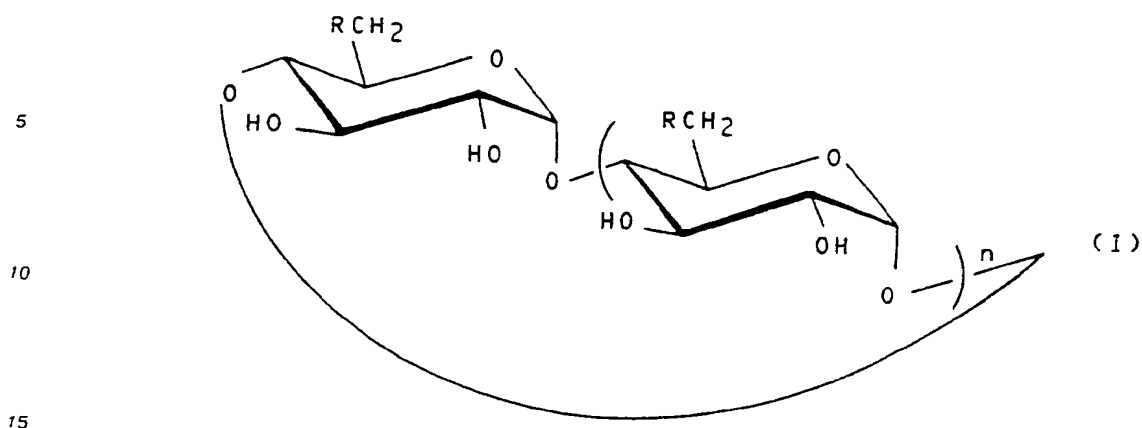
Les procédés de synthèse, uniquement par voie chimique, utilisant par exemple la glycosylation d'un dérivé partiellement protégé d'un cyclomalto-oligosaccharide par un dérivé benzylé d'un glucopyranose convenablement activé, comme il est décrit par Fügedi et al dans Carbohydr. Res., 175 (1988), 173-181, permettent d'éviter cet inconvénient car ils conduisent à des produits purs et homogènes. Cependant, ils
40 nécessitent un nombre important d'étapes et les rendements en produits sont faibles.

La présente invention a pour objet de nouveaux dérivés de cyclomalto-oligosaccharides ramifiés qui peuvent être préparés de façon plus simple, sous la forme de produits purs, et qui présentent les mêmes avantages que les cyclomalto-oligosaccharides ramifiés divulgués par les documents précités.

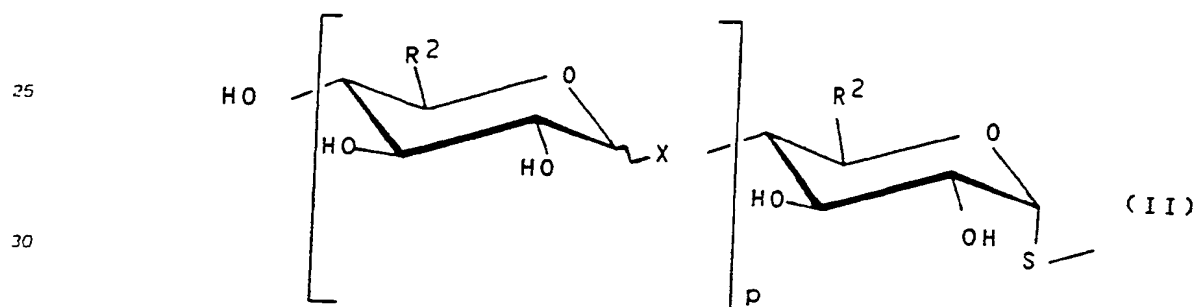
Selon l'invention, les nouveaux dérivés de cyclomalto-oligosaccharides répondent à la formule :

45

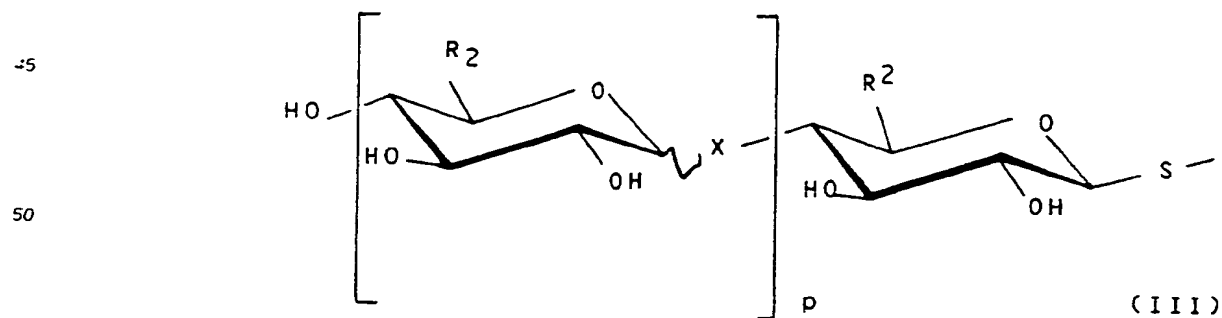
50



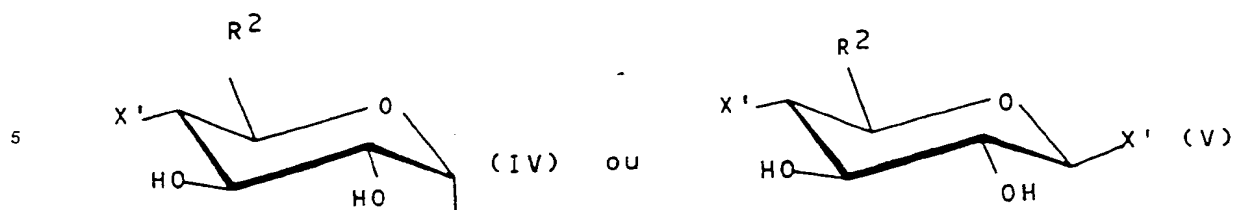
20 dans laquelle n est un nombre entier de 3 à 10, les R qui peuvent être identiques ou différents, représentent OH ou ZY avec Z représentant une simple liaison ou un radical divalent de formule $-S-R'$ dans laquelle R' représente un radical hydrocarboné divalent saturé ou insaturé et S est relié à CH_2 , et Y représentant un radical de formule :



40 ou de formule



dans lesquelles R^2 représente H ou CH_2OH , p est égal à 0 ou est un nombre entier de 1 à 9, le(s) X qui peuvent être différents, représentent O, S ou un radical répondant aux formules :



10 dans lesquelles les X' qui peuvent être identiques ou différents, représentent O ou S, et R^2 a la signification donnée ci-dessus, à condition que l'un au moins des R représente ZY.

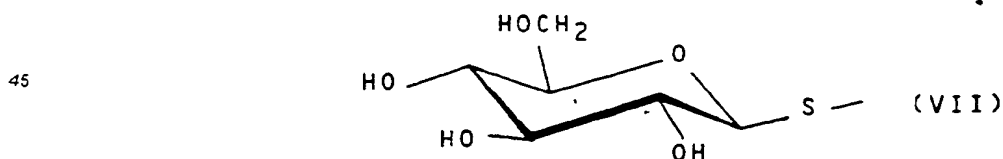
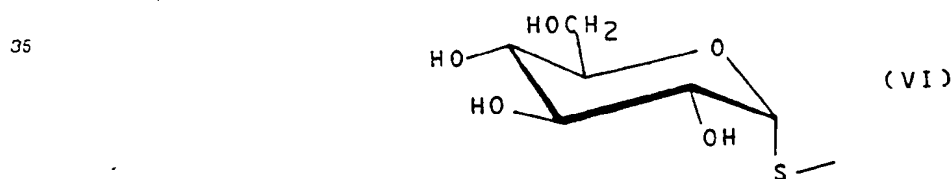
Ces nouveaux dérivés se différencient ainsi des cyclodextrines ramifiées connues par le fait que le substituant hydrophile qui est un résidu glycosyle ou oligoglycosyle est fixé sur le cycle par l'intermédiaire d'un atome de soufre. Ceci constitue un avantage important car les thioglycoses sont de bien meilleurs
15 réactifs nucléophiles que les glycoses correspondants lorsqu'ils sont engagés dans des réactions de couplage impliquant des sites électrophiles d'autres résidus glucidiques.

De plus, la fixation de ces substituants par l'intermédiaire d'un atome de soufre confère aux dérivés de cyclomalto-oligosaccharides ramifiés de l'invention une meilleure stabilité vis-à-vis des agents de dégradation enzymatique, ce qui présente un grand intérêt lorsque ces dérivés sont destinés à être utilisés pour le
20 transport de molécules pharmacophores dans les milieux biologiques.

Selon un premier mode de réalisation de l'invention, le cyclomalto-oligosaccharide comporte un seul substituant R de formule ZY. Dans ce cas, Y peut représenter comme on l'a vu plus haut soit un résidu monosaccharidique formé à partir d'un hexose ou d'un pentose sous forme cyclique pyranose ou furanose, lié en position anomérique par une liaison soufrée qui peut être de configuration alpha ou bêta, soit un
25 résidu oligosaccharidique lié également en position anomérique par une liaison soufrée ; ce résidu oligosaccharide provient d'un oligosaccharide dont les liaisons interosidiques sont des atomes d'oxygène et/ou des atomes de soufre.

Lorsque Y est un résidu oligosaccharidique, il peut provenir d'oligosaccharides tels que le maltose, le cellobiose ou le lactose. Il peut aussi provenir d'oligosaccharides comportant une ou plusieurs liaisons
30 interosidiques soufrées.

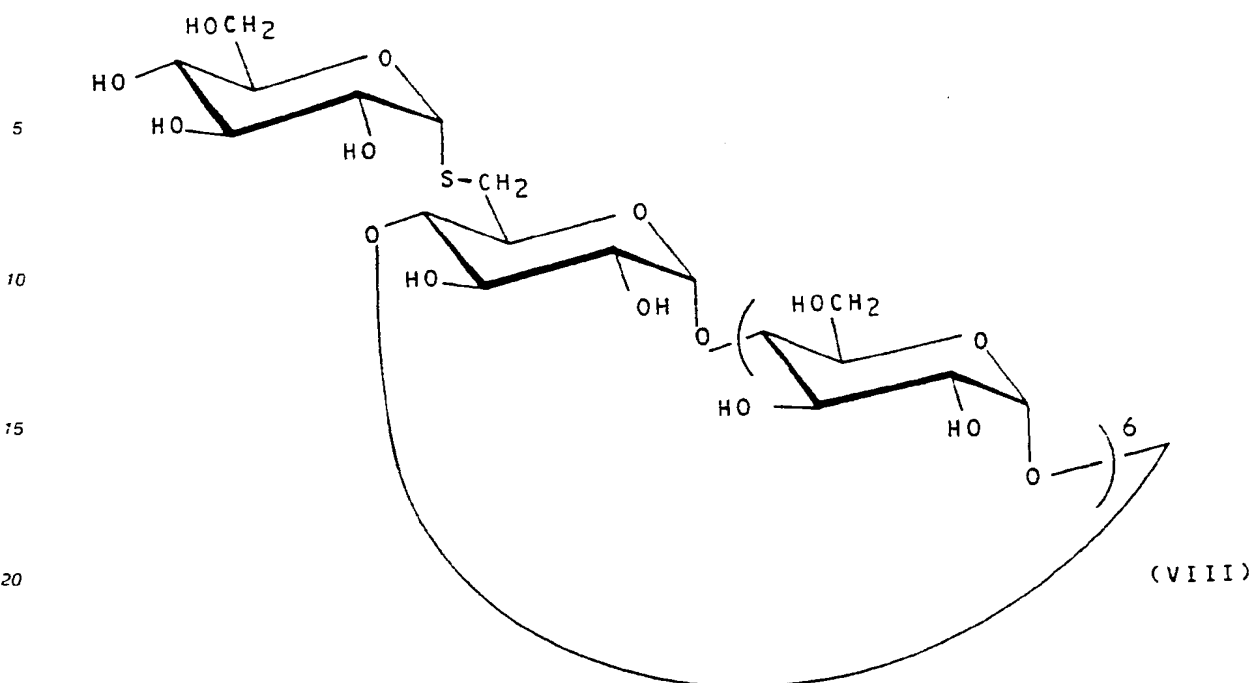
A titre d'exemple de résidu Y monosaccharidique, on peut citer ceux répondant aux formules suivantes :



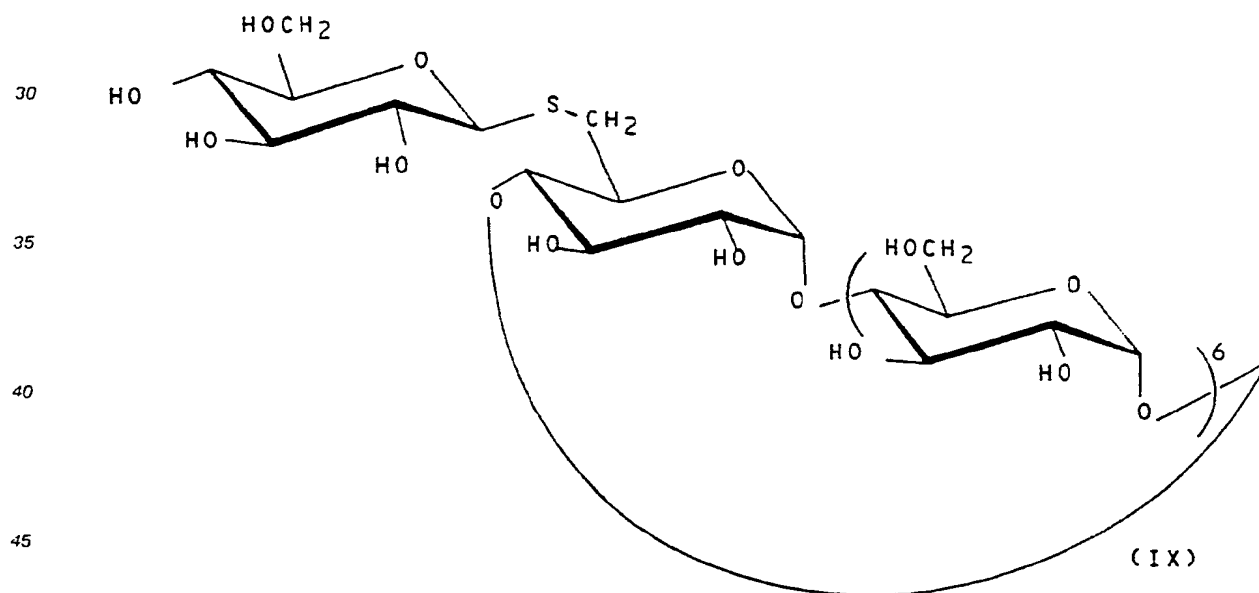
50 Le résidu Y peut être lié directement au cyclomalto-oligosaccharide ou y être fixé par l'intermédiaire d'une chaîne thio-hydrocarbonée Z.

A titre d'exemple, cette chaîne hydrocarbonée Z peut répondre à la formule $-S-(CH_2)_m$ dans laquelle m est un nombre entier de 1 à 20. Elle peut aussi comporter une insaturation éthylénique et répondre par exemple à la formule $-S-(CH_2)_q-CH=CH-(CH_2)_r$ dans laquelle q et r sont des nombres entiers de 1 à 17
55 avec $q+r$ étant au plus égal à 18.

A titre d'exemples de dérivés de cyclomalto-oligosaccharides correspondant à ce premier mode de réalisation, on peut citer le dérivé de formule :



25 ou le dérivé de formule :



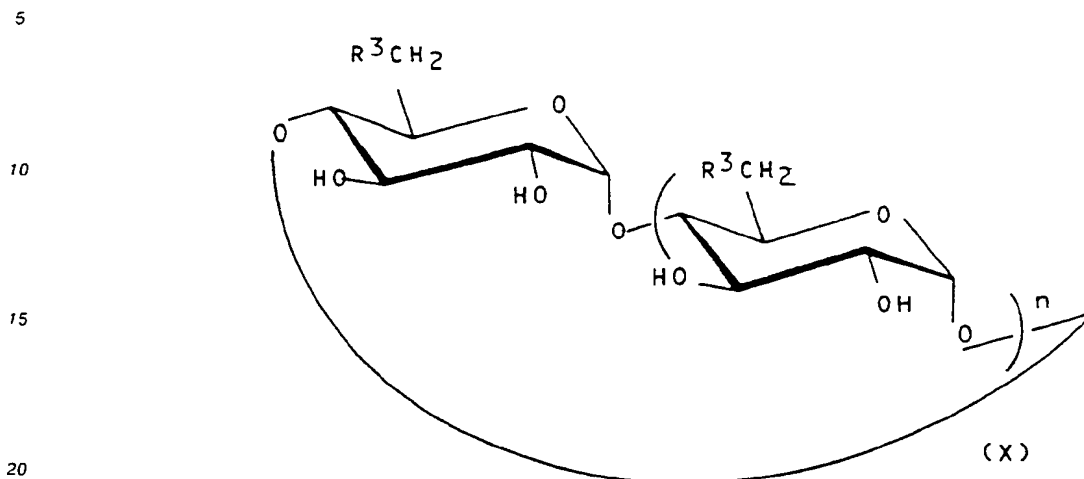
50 Selon un second mode de réalisation de l'invention, le cyclomalto- oligosaccharide comprend plusieurs substituants, soit plusieurs radicaux R qui peuvent être identiques ou différents. Dans ce cas, les radicaux R peuvent comporter comme précédemment un résidu monosaccharidique provenant d'un hexose ou d'un pentose, ou un résidu oligosaccharidique dont les liaisons interosidiques peuvent être de type O et ou S et de configuration alpha ou bêta.

55 De même, ce résidu peut être lié au cyclomalto-oligosaccharide directement par l'intermédiaire de l'atome de soufre ou par l'intermédiaire d'une chaîne thiohydrocarbonée répondant à la formule SR^* avec R^* représentant un radical hydrocarboné divalent saturé ou insaturé, qui peut répondre aux formules données ci-dessus.

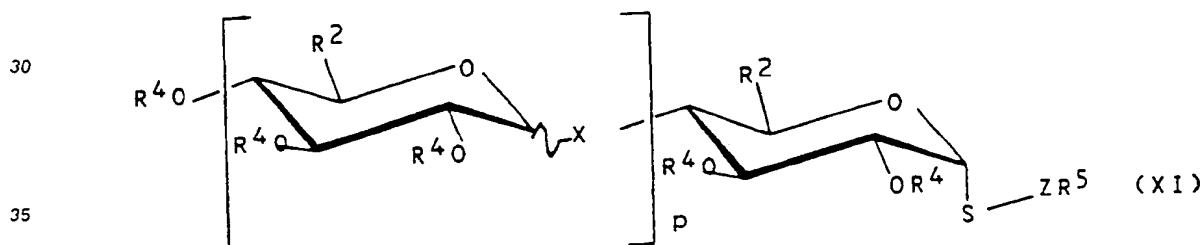
Les dérivés de cyclomalto-oligosaccharides de la présente invention peuvent être préparés aisément en

partant des cyclomalto-oligosaccharides correspondants.

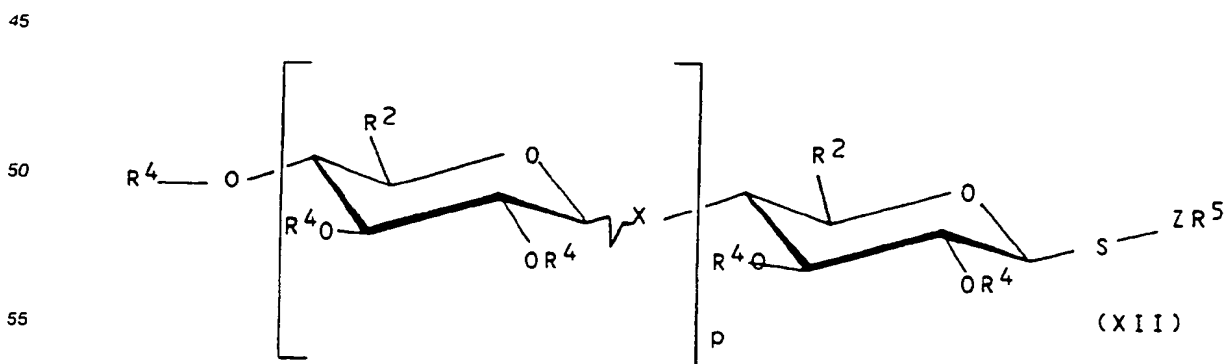
Aussi, l'invention a également pour objet un procédé de préparation d'un dérivé de cyclomalto-oligosaccharide répondant à la formule I donnée ci-dessus qui consiste à faire réagir un dérivé de cyclomalto-oligosaccharide de formule :



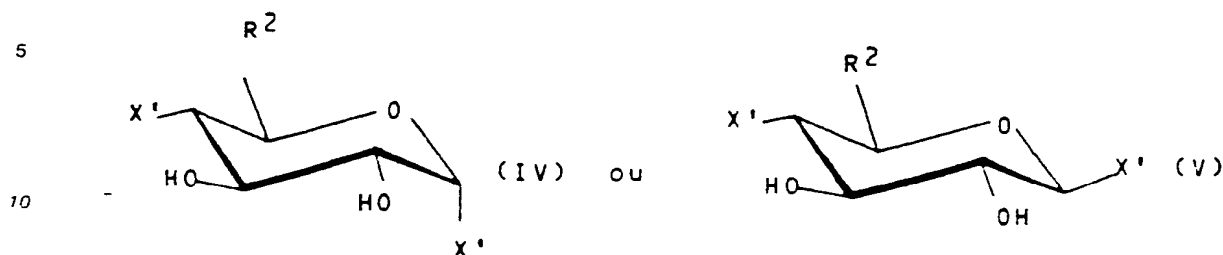
dans laquelle les R^3 qui peuvent être identiques ou différents, représentent OH ou un groupe de formule R^6SO_3 dans laquelle R^6 est un radical alkyle ou aryle, et n est un nombre entier de 3 à 10, l'un au moins des R^3 représentant un groupe de formule R^6SO_3 , avec un 1-thiomonosaccharide ou un 1-thiomalto-oligosaccharide de formule :



ou de formule



dans lesquelles R^2 représente CH_2OH , H ou CH_2OR^4 . X représente O , S ou un radical répondant aux formules :



15 dans lesquelles les X' qui peuvent être identiques ou différents, représentent O ou S , et R^2 a la signification donnée ci-dessus. R^4 représente un atome d'hydrogène ou un groupe protecteur d'une fonction hydroxyle, R^5 représente le même groupe protecteur que R^4 ou un métal alcalin, p est égal à 0 ou est un entier de 1 à 9, et Z représente une simple liaison ou $-R^1S-$ avec R^1 représentant un radical alkyle ou aryle et S étant relié à R^5 .

20 Dans ce procédé, on part donc d'un ester sulfonique du cyclomalto-oligosaccharide voulu que l'on fait réagir avec un thio-mono ou thio-oligo-saccharde sous forme de sel de métal alcalin, par exemple de sel de sodium, ou de dérivé protégé par exemple de dérivé acétylé.

L'ester sulfonique R^5SO_3 peut être un aryl ou un alkylsulfonate.

Les radicaux alkyle susceptibles d'être utilisés pour R^5 peuvent être linéaires ou ramifiés, et ils ont généralement de 1 à 5 atomes de carbone.

25 Les radicaux aryle susceptibles d'être utilisés pour R^5 peuvent être les radicaux phényle, benzyle, tolyle, naphthyle, etc. ...

Les radicaux R^4 susceptibles d'être utilisés comme groupe protecteur de OH peuvent aussi être très variés. A titre d'exemple de tels radicaux, on peut citer les radicaux esters ou acétals.

30 Pour la mise en oeuvre de ce procédé, on peut donc partir de l'ester tolylsulfonique du cyclomaltooligosaccharide et de 1-thioglycose ou d'un 1-thio-malto-oligosaccharide dont les groupes hydroxyle sont protégés ou non. Ces derniers composés peuvent être préparés, par action de thioacétate de sodium sur le chlorure de glycosyle correspondant dont les groupes hydroxyle sont protégés par exemple par des groupes acétyle, dans un solvant approprié tel que l'hexaméthylphosphoramide.

35 Pour réaliser la réaction, on active tout d'abord le nucléophile soufré par action de méthanolate de sodium dans le méthanol, puis l'on met en réaction le sel de sodium du dérivé thioglycosidique ainsi obtenu avec l'ester sulfonique dans un solvant dont la polarité puisse permettre une activation suffisante de l'anion soufré.

40 A titre d'exemple de solvants susceptibles d'être utilisés, on peut citer le 1,3-diméthyl-2-oxo-hexahydro-pyrimidinone (DMPU), la 1,3-diméthyl-2-imidazolidinone, l'hexaméthylphosphoramide, le diméthylformamide et le diméthylsulfoxyde.

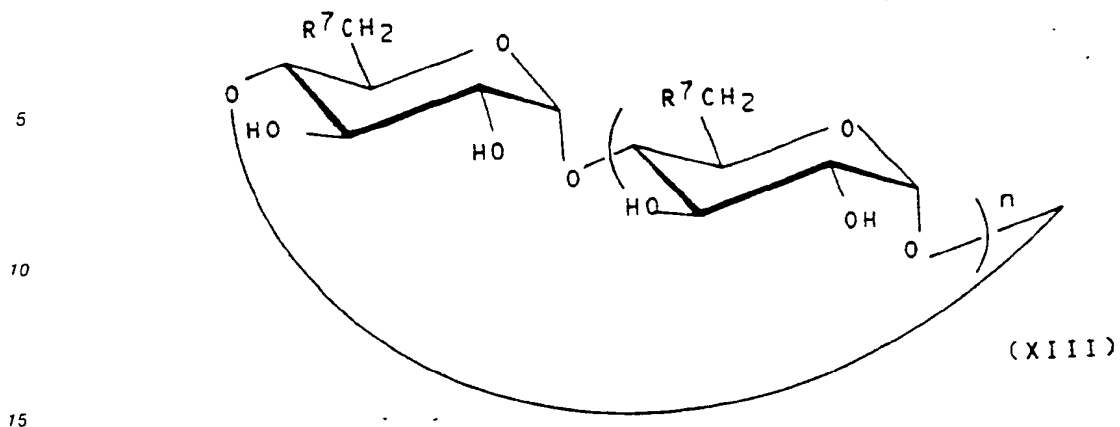
La réaction peut être effectuée à la température ambiante ou de préférence à une température supérieure, par exemple à $70^\circ C$.

45 Dans ces conditions, le dérivé de l'invention est obtenu directement avec un degré de pureté qui peut être de 70%. Pour obtenir le dérivé analytiquement pur, on réalise une étape supplémentaire de purification par chromatographie liquide en utilisant par exemple une colonne de silice greffée de type C18 et un mélange eau-méthanol comme éluant.

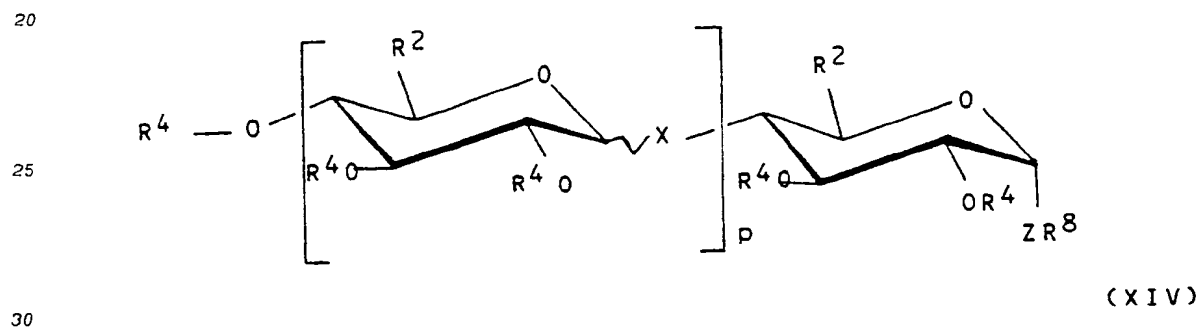
50 Les esters sulfoniques de cyclomaltooligosaccharides utilisés comme produits de départ dans ce procédé, peuvent être préparés par des procédés classiques, à partir des cyclomalto-oligosaccharides correspondants, par exemple par le procédé décrit par Matsui et al dans Bull. Chem. Soc. Jpn., 51 (1978), 3030-3034.

55 Les dérivés soufrés des monosaccharides ou des disaccharides utilisés comme produits de départ dans ce procédé peuvent être également préparés par des procédés classiques. Ainsi, le dérivé thioacétylé peut être préparé par le procédé décrit par M. Blanc-Muesser et al dans Carbohydr. Res., 1978, 67, 305. Le sel de sodium peut être préparé par le procédé décrit par Cerny et al dans Collect. Czech. Chem. Comm., 26 (1961) 2084-2086.

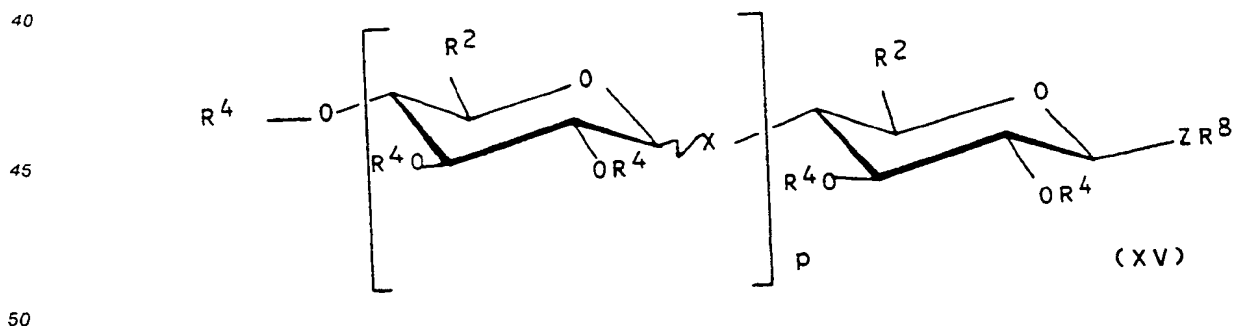
On peut aussi obtenir les dérivés de cyclomalto-oligosaccharides de formule (I) de l'invention par un second procédé qui consiste à faire réagir un dérivé de cyclomalto-oligosaccharide de formule :



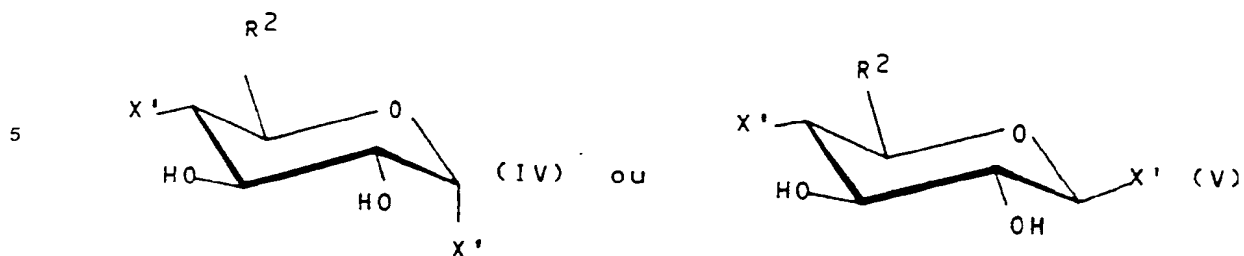
dans laquelle n est un entier de 3 à 10 et R^7 représente OH ou SH, l'un au moins des R^7 représentant SH, avec un dérivé de mono ou oligo-saccharidique de formule :



ou de formule :



dans lesquelles le(s) R^2 qui peuvent être identiques ou différents, représentent H, CH_2OH ou CH_2OR^4 , R^4 représente H ou un groupe protecteur d'une fonction OH, X représente S, O ou un radical répondant aux formules :



dans lesquelles les X' qui peuvent être identiques ou différents, représentent O ou S, et R^2 a la signification donnée ci-dessus. p est égal à 0 ou est un nombre entier de 1 à 9. Z représente une simple liaison ou $-R^1-S-$ avec R^1 représentant un radical hydrocarboné saturé ou insaturé et R^2 est un groupe capable de générer une charge positive.

Le dérivé mono ou oligo-saccharidique utilisé peut être en particulier un halogénure tel qu'un bromure ou un chlorure.

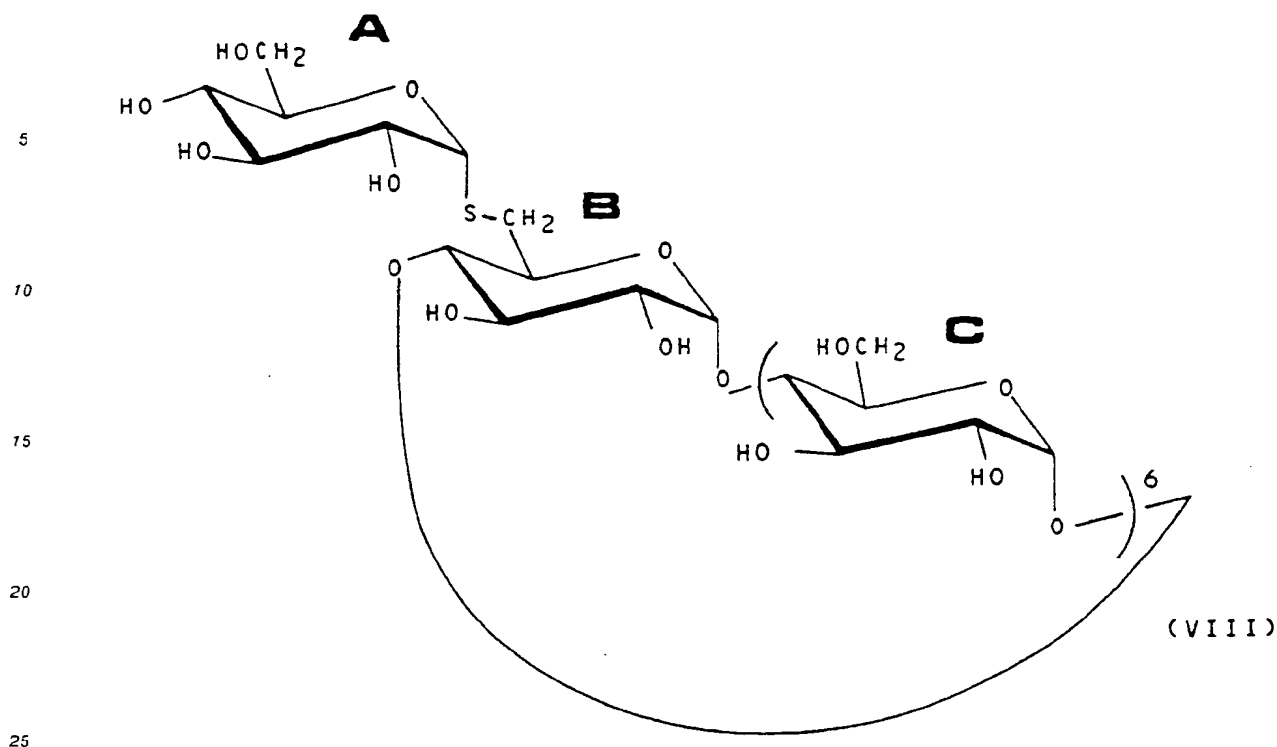
Le dérivé de cyclomalto-oligosaccharide utilisé comme produit de départ pour cette préparation peut être préparé sous la forme du thiolate de sodium correspondant par la méthode décrite par Griffiths et al dans Adv. Cat. 23(1973), p. 209. Les halogénures de mono ou d'oligosaccharides utilisés également comme produits de départ pour cette réaction peuvent être préparés par les procédés décrits par Lemieux et al dans Methods Carbohydr. Chem., 2(1963), 221-222 et 224-225. Pour réaliser la réaction, on peut utiliser les mêmes solvants aprotiques polaires que dans le premier procédé décrit ci-dessus.

Dans les deux procédés, lorsque le dérivé monosaccharidique ou oligosaccharidique utilisé a ses fonctions hydroxyle protégées par un groupement R^4 , on réalise en fin d'opération, une étape de déprotection, par exemple de désacétylation.

Comme précédemment, on purifie ensuite le produit obtenu par chromatographie en utilisant par exemple la même colonne de silice greffée et le même éluant.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront mieux à la lecture des exemples suivants, donnés bien entendu à titre illustratif et non limitatif.

Exemple 1 : Préparation du 6-S- α -D-glucopyranosyl-6-thio-cyclomaltoheptaose (composé n° 1).



A une suspension de 1,3g (3,2 mmol) de 2,3,4,6-tétra- O-acétyl-1-S-acétyl-1-thio- α -D-glucopyranose dans 27ml de méthanol, on ajoute 3,9ml de méthylate de sodium 1M. On conserve la solution obtenue à la température ambiante pendant 12 heures, puis on la concentre sous pression réduite. On dissout alors le résidu solide obtenu dans le DMPU et on y ajoute 2,08g (1,6mmol) de 6-O-p-tolylsulfonylcyclomaltoheptaose pulvérulent.

On agite le mélange réactionnel pendant 3 heures à 70 °C sous atmosphère d'azote, après quoi on concentre le solvant sous pression réduite (54 °C, 6 Pa) et l'on obtient un résidu solide brun que l'on dissout dans 20ml d'eau et que l'on déminéralise par passage sur une colonne de résine Amberlite MB-13. On soumet la solution aqueuse incolore à une extraction par le dichlorométhane, puis on la lyophilise, ce qui permet d'obtenir 1,9g d'un résidu solide.

On soumet ce résidu solide à une chromatographie liquide haute performance en utilisant une colonne de gel de silice de type C18 et un mélange méthanol-eau (9:91, V/V) comme éluant et un détecteur réfractométrique, ce qui confirme la présence d'un composant principal (k' 12). On réalise ensuite une purification par chromatographie liquide préparative en utilisant une colonne Prep Pak 500/C18, le même solvant, et une pression de 1,52.10³kPa avec une vitesse d'écoulement de 100ml/min. On obtient ainsi 1,4g de 6-S-glucosyl cyclomaltoheptaose, soit le composé n° 1, ce qui correspond à un rendement de 66%.

Les caractéristiques de ce produit sont les suivantes :

- Point de fusion : 282-284 °C (déc)

$[\alpha]_D^{20} = +172^\circ$ C (c 0,6, eau) ;

- RMN ¹H, (D₂O) : δ 5,45 (d, 1H, $J_{1,2}$ 5,4, H-1A), 5,09 (d, 1H, 4Hz, H-1B ou H-1C), 5,03 (m, 5H, H-1C), 4,99 (d, 1H, 4Hz, H-1B ou H-1C), 4,07 - 3,78 (mm, H-5A, H-5B, H-5C, H-6A, H-6C), 3,76 (dd, 1H, H-2A, $J_{2,3}$ 9,8), 3,66-3,47 (mm, H-2C, H-3A, H-4C), 3,88 (dd, 1H, $J_{3,4}$ 9,8, $J_{4,5} < 1$, H-4A), 3,14 (dd, 1H, $J_{5,6a}$ 2,6Hz, $J_{6a,6b}$ 12,5Hz, H-6aB), 3,13 (dd, 1H, $J_{5,6b}$ 5Hz, H-6b) ;

- Spectrométrie de masse : (f.a.b., matrice thioglycérol), m/z 1313 (100%, (M+H)⁺) ; avec addition d'INa : m/z 1335 (100%, (M+Na)⁺), 1173 (8%, (M+Na-162)⁺), 1140 (8%, (M+Na-195)⁺)

- Analyse élémentaire :			
	C	H	S
calculée pour $C_{42}H_{80}O_{33}S$	43,88	6,14	2,44
trouvée	44,62	6,27	2,54

5

Comme on le voit ci-dessus, la spectrométrie de masse en mode d'ionisation par bombardement d'atomes accélérés permet de détecter les ions moléculaires protonés à m/z 1313, signaux qui sont déplacés à m/z 1335 ($M+Na$) par addition d'iodure de sodium à la matrice thioglycérol. Le spectre de résonance magnétique nucléaire (RMN) du ^{13}C de ce composé est donné dans le tableau 1 annexé. Ce spectre comme celui de la RMN du 1H dont les attributions ont été confirmées par la technique de corrélation hétéronucléaire à deux dimensions, confirment la structure correspondant à la formule (VIII) donnée ci-dessus.

Dans le tableau 2 annexé, on a donné la solubilité dans l'eau du composé n° 1, ainsi que la solubilité dans l'eau du complexe d'inclusions formé entre ce composé et du 2-naphtol, de l'hydrocortisone ou du Tolnaftate (O-2-naphtylméthyl-(3-méthylphényl)carbamothioate).

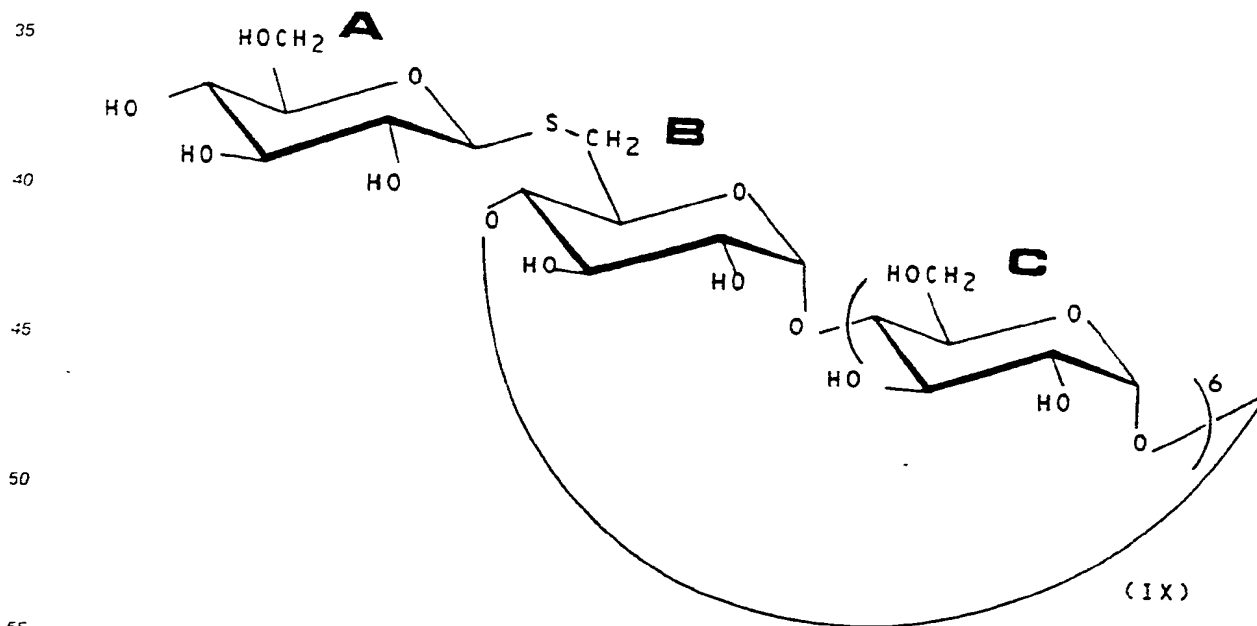
A titre comparatif, on a donné dans ce tableau, les solubilités dans l'eau de ces mêmes composés ainsi que celle du cyclomaltoheptaose non modifié (CG₇) et celles des complexes d'inclusions du CG₇ avec le 2-naphtol, l'hydrocortisone et le Tolnaftate.

Au vu de ces tableaux, on remarque que la solubilité dans l'eau du composé n° 1 de l'invention est améliorée par rapport à celle du CG₇ et que la solubilité des complexes d'inclusion est multipliée par un facteur de 14 et 4390 par rapport à la solubilité dans l'eau.

Dans le tableau 2, on a aussi indiqué les constantes de stabilité des complexes formés. On constate aussi que la constante de stabilité des complexes formés est du même ordre que celle des complexes formés avec le CG₇. Ceci laisse présager un comportement similaire en ce qui concerne la biodisponibilité éventuelle du produit inclus, pour les applications de l'invention dans le domaine thérapeutique.

30

Exemple 2 : Préparation du 6-S-bêta-D-glucopyranosyl-6-thio-cyclomaltoheptaose (composé n° 2).



55

A une solution de 0,33g (0,26mmol) de 6-O-p-tolylsulfonyl-cyclomaltoheptaose dans 1,5ml de DMPU, on ajoute 67mg (0,31mmol) du sel de sodium du 1-thio-bêta-D-glucopyranose. On agite le mélange

réactionnel pendant 5 heures à 70 °C sous atmosphère d'azote, puis on évapore le solvant sous pression réduite (54 °C/6pa), on obtient ainsi un résidu solide que l'on dissout dans 5ml d'eau et que l'on déminéralise ensuite par passage sur une colonne d'Amberlite MB-13.

On extrait alors la solution aqueuse incolore obtenue par 5ml de dichlorométhane, puis on la lyophilise. On obtient ainsi 0.305g de solide incolore qui en chromatographie liquide haute performance montre un composant principal dans les mêmes conditions que celles utilisées dans l'exemple 1. On purifie ce produit par chromatographie liquide préparative dans les mêmes conditions que celles de l'exemple 1 et on obtient ainsi 0.2g de 6-S-glucosyl-cyclomaltoheptaose (composé n° 2) analytiquement pur que l'on recristallise dans du méthanol. Le rendement est de 60%.

Les caractéristiques de ce composé sont les suivantes :

- Point de fusion : 268-272 °C (déc) :

- $[\alpha]^{20}_D + 116^\circ$, c 1. eau) :

RMN ^1H , δ 5.09 (d, 1H, 4Hz, H-1B ou H-1C), 5.03 (m, 6H, H-1C ou H-1B--5H-1C), 4.60 (d, 1H, $J_{1,2}$ 10.2Hz, H-1A), 4.12-3.75 (mm, H-5A, H-5B, H-5C, H-6A, H-6C), 3.7-3 (mm, H-2A, H-2C, H-3C, H-4A, H-4B, H-4C, H-5A, H-6aB), 2.95 (m, 1H, H6bB) :

- Spectrométrie de masse : (f.a.b., matrice thioglycérol), m/z 1313 (100%, $(\text{M} + \text{H})^+$) : avec addition d'INa : m/z 1335 (100%, $(\text{M} + \text{Na})^+$), 1173 (12%, $(\text{M} + \text{Na}-162)^+$), 1140 (10%, $(\text{M} + \text{Na}-195)^+$).

- Analyse élémentaire :

	C	H	S
Calculée pour $\text{C}_{48}\text{H}_{80}\text{O}_{39}\text{S}$	43.88	6.14	2.44
Trouvée :	43,62	5.83	2,39

Le spectre de résonance magnétique nucléaire du ^{13}C de ce composé est donné dans le tableau 1 annexé et ces résultats ainsi que le spectre de RMN du ^1H confirment la structure correspondant à la formule (IX) donnée ci-dessus.

La solubilité dans l'eau du composé n° 2 ainsi que celles de ses complexes d'inclusion avec le 2-naphtol, l'hydrocortisone et le Tolnaftate sont données également dans le tableau 2 annexé.

Dans le tableau 2, on a également indiqué les constantes de stabilité des complexes d'inclusion formés.

Comme dans le cas du composé n° 1, la solubilité dans l'eau est très améliorée par rapport à celle du cyclomaltoheptaose et l'on obtient également une augmentation importante de la solubilisation des composés apolaires dans l'eau puisque la solubilité du Tolnaftate est augmentée de 3090 fois. De même, le 2-naphtol qui possède déjà une certaine solubilité dans l'eau voit celle-ci néanmoins augmenter de 14 fois en présence des composés n° 1 et n° 2, alors que ce taux de solubilisation n'est augmenté que de 5 fois en présence de cyclomaltoheptaose.

De même, les constantes de stabilité apparente des complexes formés entre le 2-naphtol et l'hydrocortisone ne sont pas notablement modifiées par rapport à celles des complexes correspondants formés avec le cyclomaltoheptaose dans les mêmes conditions.

Ainsi, les nouveaux dérivés de l'invention permettent d'améliorer dans des proportions importantes la solubilité dans l'eau de composés d'inclusion apolaires ou plus généralement insolubles ou peu solubles dans ce solvant par comparaison avec les cyclomalto-oligosaccharides correspondants, tout en conservant les capacités de complexation de ces derniers composés. Ces propriétés sont donc voisines de celles des cyclomalto-oligosaccharides ramifiés obtenus par les procédés de l'art antérieur qui sont beaucoup plus difficiles à mettre en oeuvre.

TABLEAU 1

RMN du ¹³ C							
Mesures effectuées dans l'oxyde de deutérium avec le méthanol-d ₄ comme standard externe							
Composé	Unité structurale à laquelle se rapporte l'attribution(a)	Déplacements chimiques (δ, p.p.m.) des atomes de carbone					
		C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
1	A	85,9 (99,4) ^(b)	71,3 (72,2) ^(b)	73,7 (73,7) ^(b)	69,8 (70,3) ^(b)	72,5 (71,6) ^(b)	60,6 (61,2) ^(b)
	B	102 (102,1) ^(b)	72,2 (72,3) ^(b)	73,2 (74) ^(b)	84,2 (82,4) ^(b)	70,7 (72,7) ^(b)	31 (67,8) ^(b)
	C	102 (102,1) ^(b)	72,2 (72,41) ^(b)	73,2 (74,01) ^(b)	81,4 (81,9) ^(b)	71,9 (72,7) ^(b)	60,5 (61,2) ^(b)
2	A	87,1	72,1	79,8	69,7	77,4	61,2
	B	102	72,1	73	84,9	71,9	32,8
	C	102	72,1	73	81,2	71,9	60,4

(a) Les attributions se rapportent aux unités structurales définies dans les schémas de formules.

(b) Les valeurs entre parenthèses sont celles trouvées pour le 6-O-(γ -D-glucopyranosyl)-cyclomaltoheptaose par Yamamoto et al. dans Carbohydr. Res., 166(1987) 156-161 et sont données à titre de comparaison.

TABLEAU 2

Solubilité comparée des 6-S-glucosyl-6-thio-cyclomaltoheptaoses 1 et 2, du cyclomaltoheptaose, ainsi que de leurs complexes d'inclusion avec quelques molécules apolaires. Les facteurs d'augmentation de solubilité² sont donnés entre parenthèses et les constantes de stabilité apparente entre crochets.

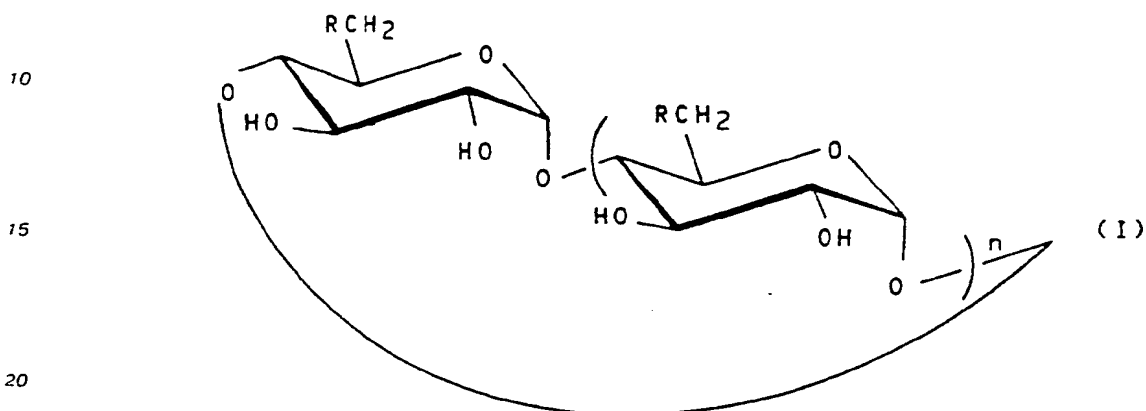
Soluté	Solubilité dans l'eau ($\mu\text{g/ml}$)	Solubilité ($\mu\text{g/ml}$) : facteur d'augmentation de solubilité entre parenthèses (2) Constante de stabilité des complexes (en mol^{-1}) entre crochets.		
Cyclomaltoheptaoses (CO 7)	19.10 ³ 43.10 ⁴ 30.10 ³	Solution aqueuse à 1,7.10 ⁻² mol/l de CO ₇	Solution aqueuse à 3.10 ⁻² mol/l de composé n° 1	Solution aqueuse à 3.10 ⁻² mol/l de composé n° 2
		4 150 (x 5) [30]	11 010 (x 14) [44]	11 010 (x 14) [44]
		2 255 (x 8) [3 720]	82 810 (x 200) [1 000]	70 810 (x 170) [2 700]
2-naphtol	810	840 (x 70) [1 330]	52 000 (x 4300) [34 320]	37 000 (x 3 090) [17 320]
Hydrocortisone	410			
Tolnaftate 1	12			

1. Tolnaftate : 0-2-Naphtyl-méthyl-(3-méthylphényl)-carbamothioate.

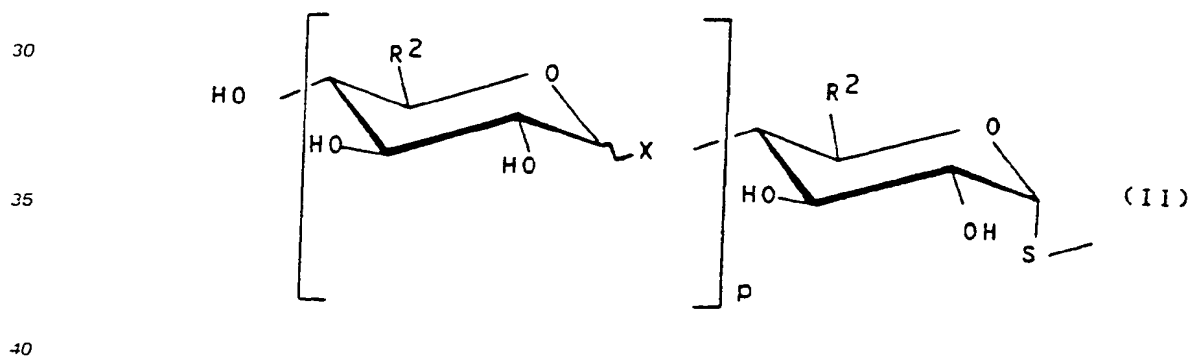
2. Le facteur d'augmentation de solubilité est donné par rapport à l'eau.

Revendications

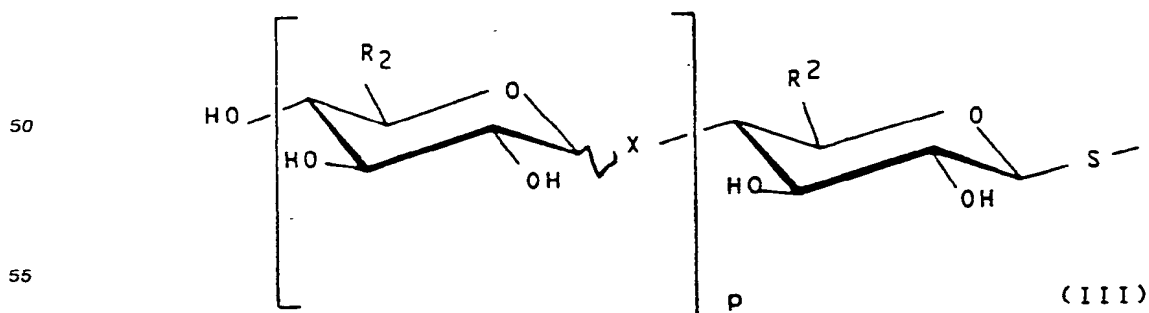
1. Dérivé de cyclomalto-oligosaccharide répondant à la formule :



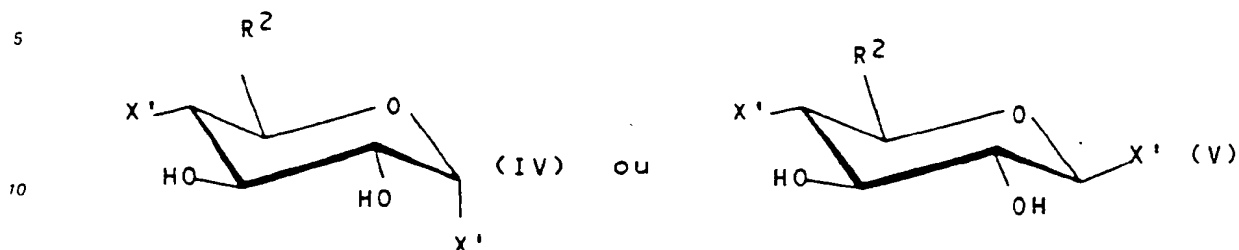
dans laquelle n est un nombre entier de 3 à 10, les R qui peuvent être identiques ou différents, représentent OH ou ZY avec Z représentant une simple liaison ou un radical divalent de formule $-S-R'$ dans laquelle R' représente un radical hydrocarboné divalent saturé ou insaturé et S est relié à CH_2 , et Y représentant un radical de formule :



ou de formule :

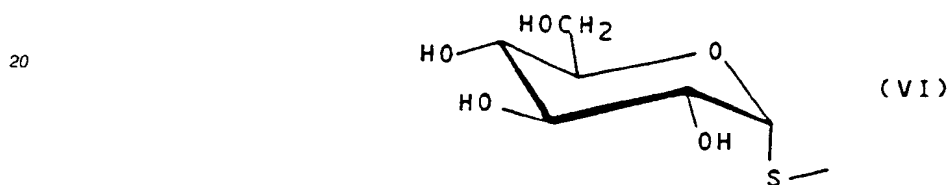


dans lesquelles R^2 représente H ou CH_2OH , p est égal à 0 ou est un nombre entier de 1 à 9, le(s) X qui peuvent être différents, représentent O, S ou un radical répondant aux formules :

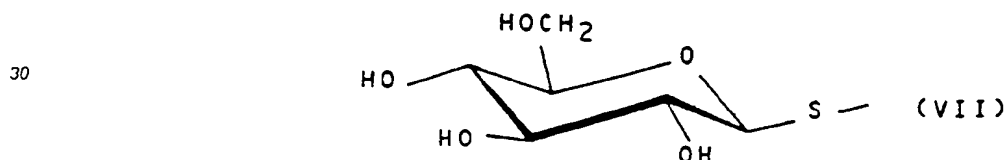


15 dans lesquelles les X' qui peuvent être identiques ou différents, représentent O ou S, et R^2 a la signification donnée ci-dessus, à condition que l'un au moins des R représente ZY.

2. Dérivé de cyclomalto-oligosaccharide selon la revendication 1, caractérisé en ce que Y représente :



3. Dérivé de cyclomalto-oligosaccharide selon la revendication 1, caractérisé en ce que Y représente :

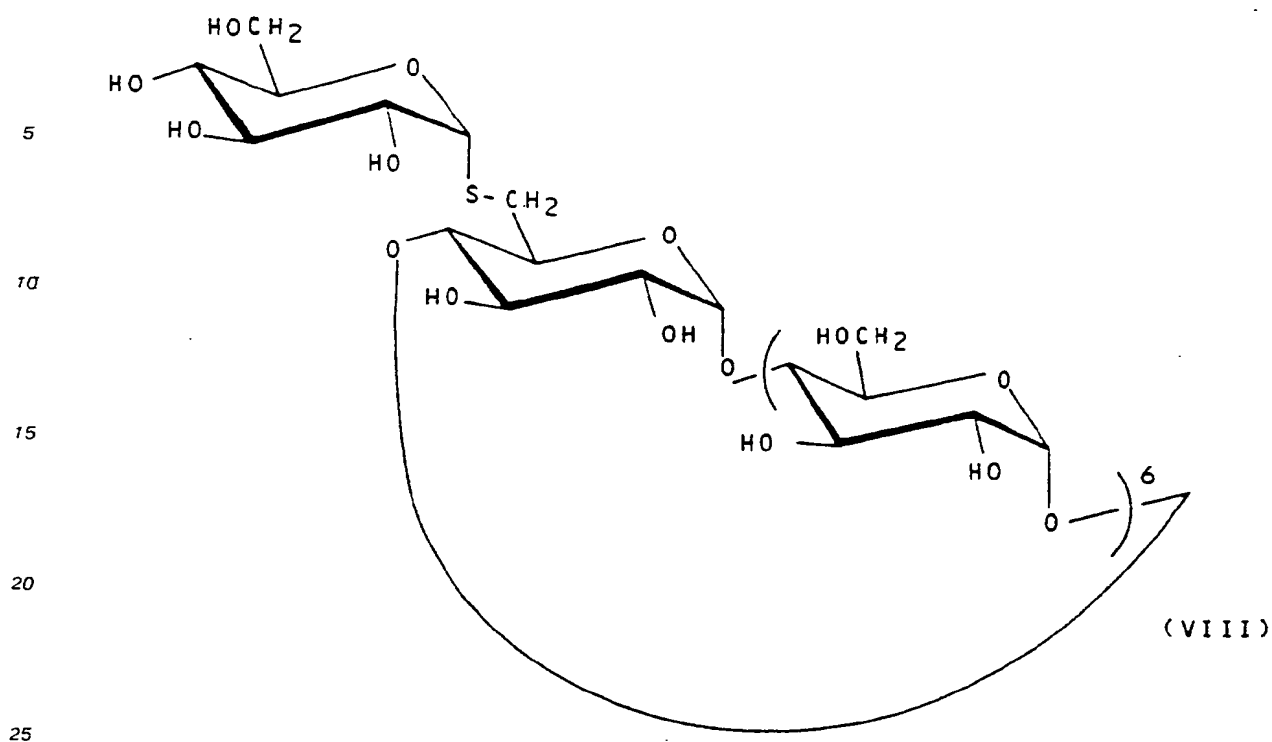


4. Dérivé de cyclomalto-oligosaccharide selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que Z représente une simple liaison.

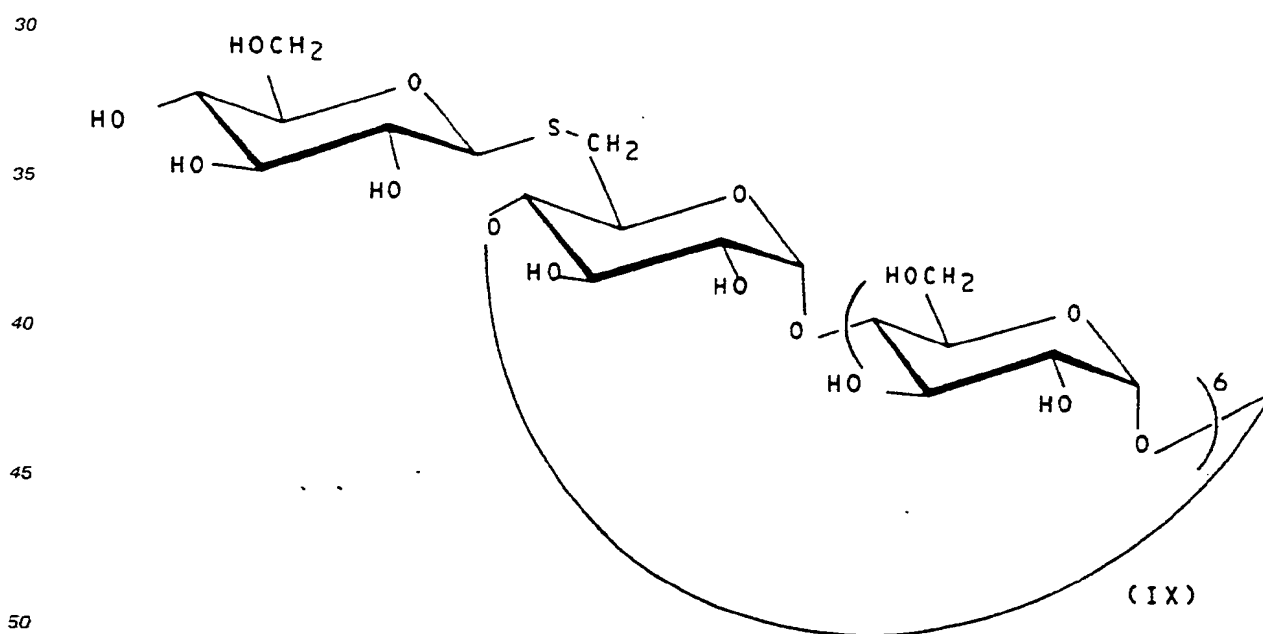
5. Dérivé de cyclomalto-oligosaccharide selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que Z représente un radical de formule $-S-(CH_2)_m-$ dans laquelle m est un entier de 1 à 20.

6. Dérivé de cyclomalto-oligosaccharide selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que Z représente un radical de formule $S-(CH_2)_q-CH=CH-(CH_2)_r-$ dans laquelle q et r sont des nombres entiers de 1 à 17 avec $q+r$ étant au plus égal à 18.

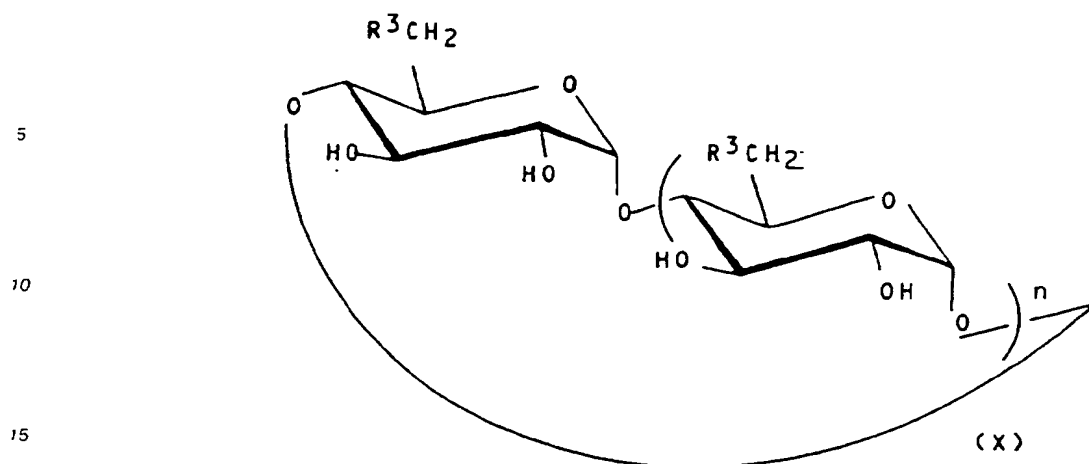
7. Dérivé de cyclomalto-oligosaccharide selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il répond à la formule :



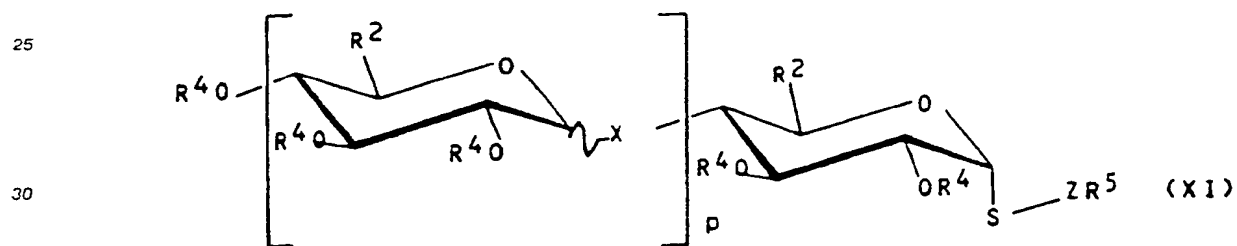
8. Dérivé de cyclomalto-oligosaccharide selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il répond à la formule :



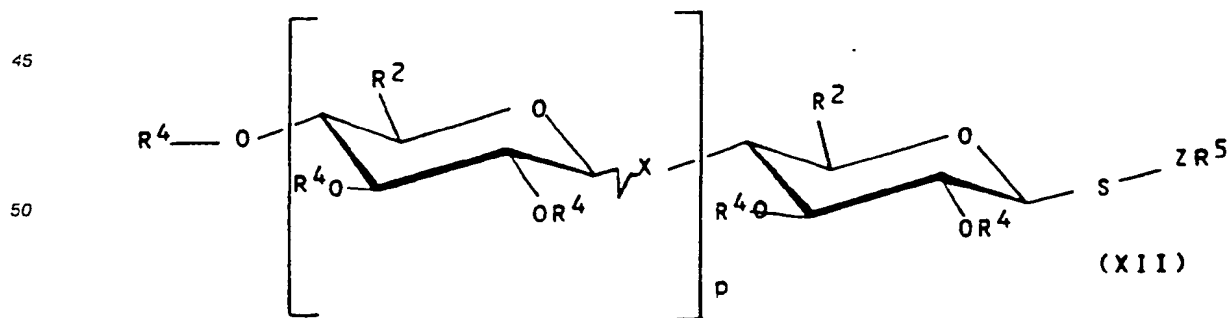
9. Procédé de préparation d'un dérivé de cyclomalto-oligosaccharide selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il consiste à faire réagir un dérivé de cyclomalto-oligosaccharide de formule :



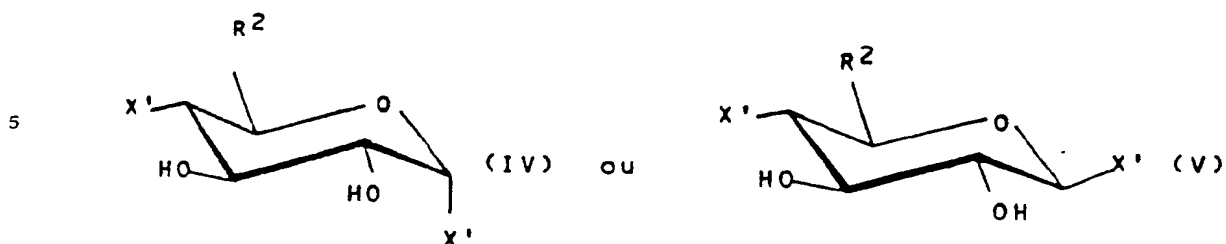
20 dans laquelle les R^3 qui peuvent être identiques ou différents, représentent OH ou un groupe de formule R^6SO_3 dans laquelle R^6 est un radical alkyle ou aryle et n est un nombre entier de 3 à 10, l'un au moins des R^3 représentant un groupe de formule R^6SO_3 , avec un 1-thiomonosaccharide ou un 1-thiomalto-



35
40 ou de formule :



dans lesquelles R^2 représente CH_2OH , H ou CH_2OR^4 . X représente O, S, ou un radical répondant aux formules:



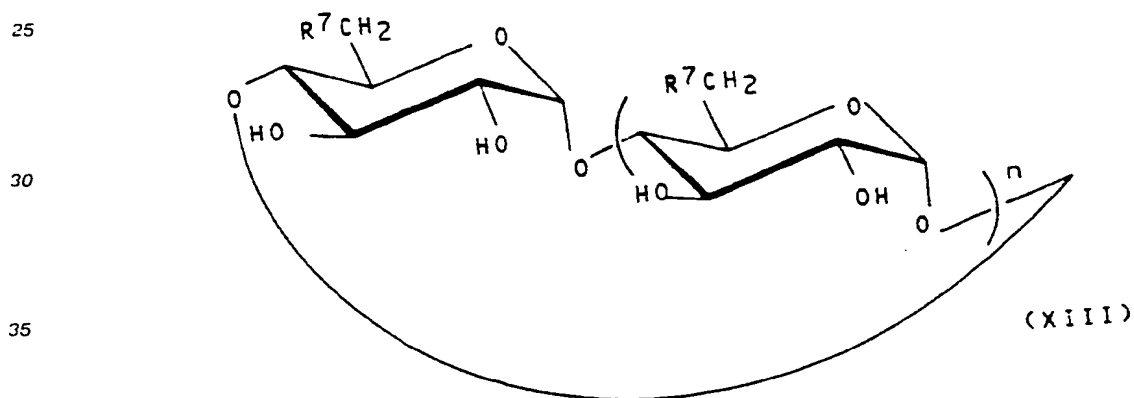
15 dans lesquelles les X' qui peuvent être identiques ou différents, représentent O ou S, et R^2 a la signification donnée ci-dessus, R^4 représente un atome d'hydrogène ou un groupe protecteur d'une fonction hydroxyle, R^5 représente le même groupe protecteur que R^4 ou un métal alcalin, p est égal à 0 ou est un entier de 1 à 9 et Z représente une simple liaison ou $-R^1-S-$ avec R^1 représentant un radical hydrocarboné saturé ou insaturé et S étant relié à R^5 .

10. Procédé selon la revendication 9, caractérisé en ce que R^4 et R^5 représentent le groupe acétyle.

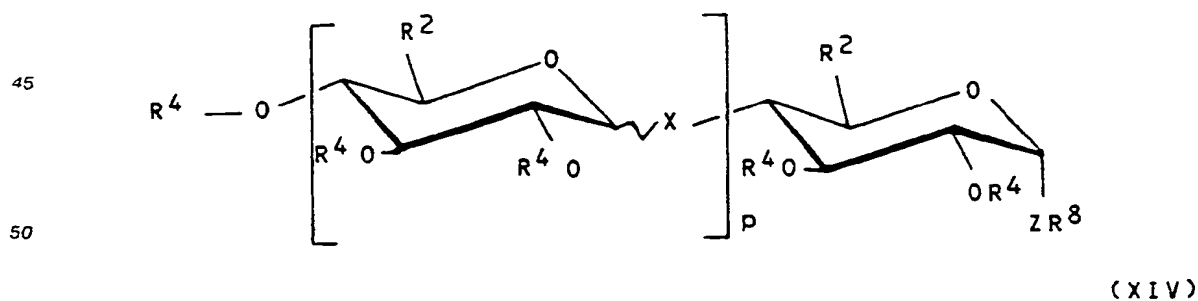
11. Procédé selon l'une quelconque des revendications 9 et 10, caractérisé en ce que R^5 est le radical tolyle.

20 12. Procédé selon la revendication 9, caractérisé en ce que R^4 est un atome d'hydrogène et R^5 est le sodium.

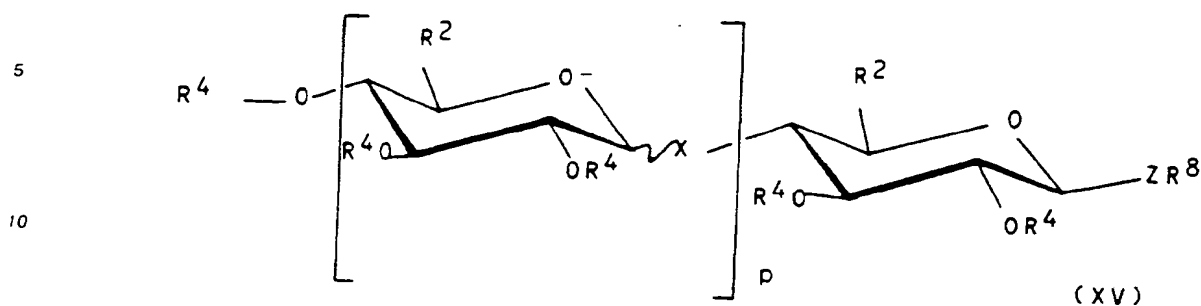
13. Procédé de préparation d'un dérivé de cyclomalto-oligosaccharide selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il consiste à faire réagir un dérivé de cyclomalto-oligosaccharide de formule :



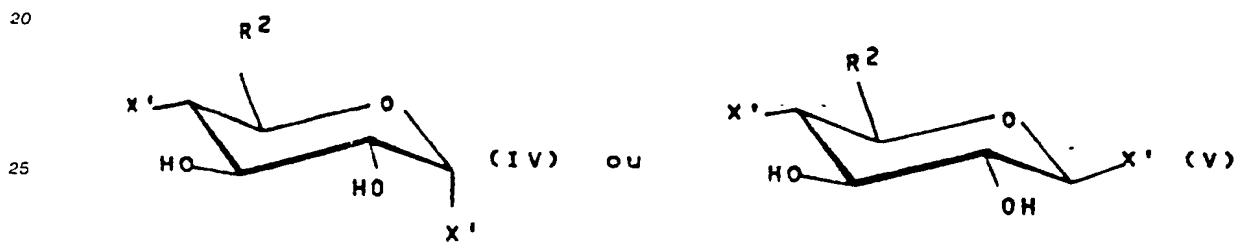
40 dans laquelle n est un entier de 3 à 10 et R^7 représente OH ou SH, l'un au moins des R^7 représentant SH, avec un dérivé de mono ou oligo-saccharidique de formule :



ou de formule :



15 dans lesquelles le(s) R^2 qui peuvent être identiques ou différents, représentent H, CH_2OH ou CH_2OR^4 , R^4 représente H ou un groupe protecteur d'une fonction OH, X représente S, O ou un radical répondant aux formules



30 dans lesquelles les X' qui peuvent être identiques ou différents, représentent O ou S, et R^2 a la signification donnée ci-dessus, p est égal à 0 ou est un nombre entier de 1 à 9, Z représente une simple liaison ou $-\text{R}^1-$ avec R^1 représentant un radical hydrocarboné saturé ou insaturé et R^8 est un groupe capable de générer une charge positive.

14. Procédé selon la revendication 13, caractérisé en ce que R^8 est un atome d'halogène.

(19)



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



(11) Numéro de publication:

0 403 366 A3

(12)

DEMANDE DE BREVET EUROPEEN

(21) Numéro de dépôt: 90401620.1

(51) Int. Cl.⁵: **C08B 37/16**

(22) Date de dépôt: 12.06.90

(30) Priorité: 14.06.89 FR 8907876

(43) Date de publication de la demande:
19.12.90 Bulletin 90/51(84) Etats contractants désignés:
BE DE GB IT(54) Date de publication différée du rapport de
recherche: 08.05.91 Bulletin 91/19

(72) Demandeur: COMMISSARIAT A L'ENERGIE
ATOMIQUE Etablissement de Caractère
Scientifique Technique et Industriel
31/33, rue de la Fédération
F-75015 Paris(FR)

Demandeur: UNIVERSITY COLLEGE DUBLIN
Belfield
Dublin 4(IE)

Demandeur: Darcy, Raphael Dr

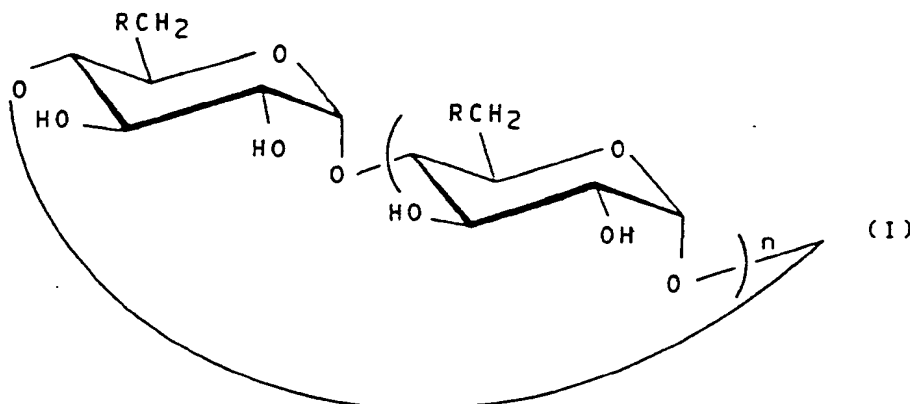
58 Clonard Drive
Dublin 16(IE)

(72) Inventeur: Darcy, Raphael
58, Clonard Drive
Dublin 16(IE)
Inventeur: Defaye, Jacques
202, Chemin du Vercors
F-38330 Saint-Ismier(FR)
Inventeur: Gadelle, Andrée
28 Hameau Fleuri, Montbonnot-Saint-Martin
F-38330 Saint-Ismier(FR)
Inventeur: Guillet, Alain
6 Chemin du Signal
F-69110 Sainte Foy les Lyon(FR)
Inventeur: O'Sullivan, Thomas
c/o University College Dublin
Belfield, Dublin 4(IE)

(74) Mandataire: Mongrédien, André et al
c/o BREVATOME 25, rue de Ponthieu
F-75008 Paris(FR)

(54) Dérivés de cyclomalto-oligosaccharides et leurs procédés de préparation.

(57) L'invention concerne des dérivés de cyclomalto-oligosaccharides répondant à la formule :



EP 0 403 366 A3

dans laquelle n est un nombre entier de 3 à 10, et les R qui peuvent être identiques ou différents, sont des résidus mono saccharidiques ou oligo saccharidiques liés par un atome de soufre et éventuellement une chaîne thio hydrocarbonée.

Ces dérivés peuvent être préparés par réaction d'un ester sulfonique de cyclomalto-oligosaccharide correspondant avec un thio-monosaccharide ou un thio-oligosaccharide.



Office européen
des brevets

RAPPORT DE RECHERCHE EUROPEENNE

Numéro de la demande

EP 90 40 1620

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS																	
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int. Cl.5)														
A	JOURNAL OF AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, vol. 102, no. 3, 30 janvier 1980, pages 1161-1163; K. FUJITA et al.: "Hydrolysis of phenyl acetates with capped beta-cyclodextrins: reversion from meta to para selectivity" * Page 1162, colonne de gauche, avant-dernier alinéa *		C 08 B 37/16														
A	DE-A-3 710 569 (DIRECTOR-GENERAL OF AGENCY OF INDUSTRIAL SCIENCE AND TECHNOLOGY) -----																
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl.5)														
			C 08 B														
Le présent rapport de recherche a été établi pour toutes les revendications																	
Lieu de la recherche La Haye		Date d'achèvement de la recherche 25 février 91	Examineur LENSSEN H.W.M.														
<table border="0"><tr><td>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</td><td>E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date</td></tr><tr><td>X : particulièrement pertinent à lui seul</td><td>D : cité dans la demande</td></tr><tr><td>Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie</td><td>L : cité pour d'autres raisons</td></tr><tr><td>A : arrière-plan technologique</td><td>.....</td></tr><tr><td>O : divulgation non-écrite</td><td>& : membre de la même famille, document correspondant</td></tr><tr><td>P : document intercalaire</td><td></td></tr><tr><td>T : théorie ou principe à la base de l'invention</td><td></td></tr></table>				CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES	E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date	X : particulièrement pertinent à lui seul	D : cité dans la demande	Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie	L : cité pour d'autres raisons	A : arrière-plan technologique	O : divulgation non-écrite	& : membre de la même famille, document correspondant	P : document intercalaire		T : théorie ou principe à la base de l'invention	
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES	E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date																
X : particulièrement pertinent à lui seul	D : cité dans la demande																
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie	L : cité pour d'autres raisons																
A : arrière-plan technologique																
O : divulgation non-écrite	& : membre de la même famille, document correspondant																
P : document intercalaire																	
T : théorie ou principe à la base de l'invention																	

THIS PAGE BLANK (USPTO)